

AN 1992-427656 [52] WPIDS

TI Control of growth and functional differentiation of biological cell - by contacting surface of artificial element having protrusions with cells or tissues and nerves.

PA (UYTY) UNIV TOKYO

PI JP 04322657 A 19921112 (199252)\* 8 A61L027-00  
JP 06069487 B2 19940907 (199434) 8 A61L027-00

AB JP 04322657 A UPAB: 19940928

In the promotion and control of the growth and functional differentiation of biological cells, the surface of an artificial element on which many fine protrusions and grooves are formed is brought into contact with cells or a tissue(s) selected from connective tissues and nerve, glia, Schwann, skin, muscle, kidney and liver cells.

The grooves are pref. about 0.1-1000 microns wide and about 0.1-1000 microns deep and more pref. parallel to each other. Pref. a biologically active substance(s) is adhered to the surface of the asperities.

The biologically active substance is pref. one or a mixt. of collagen, poly-L-lysine, poly-L-ornithine, laminin, fibronectin, tick plasma, artificial lipid films, such as LB film (an example cited in the subclaim) and nerve growth factors. The element pref. contains one or a mixt. of quartz, hard and soft glasses, organic high molecular materials, metals, ceramics, silicone rubbers and semiconductors.

USE/ADVANTAGE - The simple appliance and method well promotes the growth and functional differentiation, while exerting bio-affinity for the cells and tissues and controlling defense reactions. It requires no chemica

[First Hit](#)    [Previous Doc](#)    [Next Doc](#)    [Go to Doc#](#)

**End of Result Set**

[Generate Collection](#) [Print](#)

L23: Entry 1 of 1

File: JPAB

Nov 12, 1992

PUB-NO: JP404322657A

DOCUMENT-IDENTIFIER: JP 04322657 A

TITLE: GROWTH OF ORGANIC CELL AND METHOD OF PROMOTING AND CONTROLLING FUNCTIONAL DIFFERENTIATION

PUBN-DATE: November 12, 1992

INVENTOR-INFORMATION:

NAME	COUNTRY
FUKUDA, JUN	
HIRONO, TAKUSHI	
TORIMITSU, KEIICHI	

ASSIGNEE-INFORMATION:

NAME	COUNTRY
TOKYO UNIV	

APPL-NO: JP03042272

APPL-DATE: February 15, 1991

US-CL-CURRENT: 435/177; 435/402, 435/FOR.108

INT-CL (IPC): A61L 27/00; A61F 2/02

ABSTRACT:

PURPOSE: To promote and control the growth of a cell without exhibiting organic protecting reaction while imparting to an organic cell affinity to an aritificial element by bringing the artificial element comprising a material into contact with a non-porous shape of the surface scored with a number of fine undulations.

CONSTITUTION: The surface of an artificial element 1 having a surface scored with a number of fine thread grooves 2 is brought into contact with an organic cellar or a vital tissue selected from a group of a bond tissue, a neurocyte, a gliacyte, a Schwann cell, a skin cell, a muscular cell, a renal cell and a liver cell. Here, the fine thread groove is 0.1-1,000 $\mu$ m in width, about 0.1-1,000 $\mu$ m in depth and the grooves are made parallel. A bioactive substance selected from a group of collagen, a poly-L-lysine, poly-L-ornithine, laminin, fibronectin, chick plasma, an artificial lipid membrane and a neural growth factor is further applied onto finely undulated surfaces 2 and 3.

COPYRIGHT: (C)1992, JPO&Japio

[Previous Doc](#)    [Next Doc](#)    [Go to Doc#](#)

[First Hit](#)    [Previous Doc](#)    [Next Doc](#)    [Go to Doc#](#)

**End of Result Set**

[Generate Collection](#) [Print](#)

L21: Entry 1 of 1

File: DWPI

Nov 12, 1992

DERWENT-ACC-NO: 1992-427656

DERWENT-WEEK: 199252

COPYRIGHT 2006 DERWENT INFORMATION LTD

**TITLE:** Control of growth and functional differentiation of biological cell - by contacting surface of artificial element having protrusions with cells or tissues and nerves

**PATENT-ASSIGNEE:**

ASSIGNEE	CODE
UNIV TOKYO	UYTY

**PRIORITY-DATA:** 1986JP-0265564 (November 10, 1986), 1991JP-0042272 (November 10, 1986)

[Search Selected](#) [Search ALL](#) [Clear](#)

**PATENT-FAMILY:**

PUB-NO	PUB-DATE	LANGUAGE	PAGES	MAIN-IPC
<input type="checkbox"/> <a href="#">JP 04322657 A</a>	November 12, 1992		008	A61L027/00
<input type="checkbox"/> <a href="#">JP 94069487 B2</a>	September 7, 1994		008	A61L027/00

**APPLICATION-DATA:**

PUB-NO	APPL-DATE	APPL-NO	DESCRIPTOR
JP 04322657A	November 10, 1986	1986JP-0265564	Div ex
JP 04322657A	November 10, 1986	1991JP-0042272	
JP 94069487B2	November 10, 1986	1986JP-0265564	Div ex
JP 94069487B2	November 10, 1986	1991JP-0042272	
JP 94069487B2		JP 4322657	Based on

INT-CL (IPC): A61F 2/02; A61L 27/00

RELATED-ACC-NO: 1988-180715

ABSTRACTED-PUB-NO: JP 04322657A

BASIC-ABSTRACT:

In the promotion and control of the growth and functional differentiation of biological cells, the surface of an artificial element on which many fine protrusions and grooves are formed is brought into contact with cells or a tissue (s) selected from connective tissues and nerve, glia, Schwann, skin, muscle, kidney and liver cells.

The grooves are pref. about 0.1-1000 microns wide and about 0.1-1000 microns deep and more pref. parallel to each other. Pref. a biologically active substance(s) is adhered to the surface of the asperities.

The biologically active substance is pref. one or a mixt. of collagen, poly-L-lysine, poly-L-ornithine, laminin, fibronectin, tick plasma, artificial lipid films, such as LB film (an example cited in the subclaim) and nerve growth factors. The element pref. contains one or a mixt. of quartz, hard and soft glasses, organic high molecular materials, metals, ceramics, silicone rubbers and semiconductors.

USE/ADVANTAGE - The simple appliance and method well promotes the growth and functional differentiation, while exerting bio-affinity for the cells and tissues and controlling defense reactions. It requires no chemica

CHOSEN-DRAWING: Dwg.0/0

TITLE-TERMS: CONTROL GROWTH FUNCTION DIFFERENTIAL BIOLOGICAL CELL CONTACT SURFACE ARTIFICIAL ELEMENT PROTRUDE CELL TISSUE NERVE

DERWENT-CLASS: A96 B04 D22 P34

CPI-CODES: A12-W11L; B04-B01B; B04-B04A3; B04-B04A6; B04-B04J; B04-B04M; B04-C01G; B04-C03; B04-D02; B05-B02C; D09-C;

CHEMICAL-CODES:

Chemical Indexing M1 \*01\*  
Fragmentation Code  
M423 M720 M903 N136 V754  
Registry Numbers  
92407

POLYMER-MULTIPUNCH-CODES-AND-KEY-SERIALS:

Key Serials: 0009 0231 1283 1306 1790 1986 2513 2654 3272

Multipunch Codes: 014 032 04- 05- 075 141 157 192 194 229 256 38- 435 53& 575 596  
623 624

SECONDARY-ACC-NO:

CPI Secondary Accession Numbers: C1992-189721

Non-CPI Secondary Accession Numbers: N1992-326404

[Previous Doc](#)

[Next Doc](#)

[Go to Doc#](#)

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平4-322657

(43)公開日 平成4年(1992)11月12日

(51) Int.Cl.<sup>5</sup>

識別記号 庁内整理番号

F I

技術表示箇所

A 61 L 27/00

Z 7038-4C

A 61 F 2/02

7038-4C

審査請求 有 発明の数1(全 8 頁)

(21)出願番号

特願平3-42272

(62)分割の表示

特願昭61-265564の分割

(22)出願日

昭和61年(1986)11月10日

(71)出願人 391012327

東京大学長

東京都文京区本郷7丁目3番1号

(72)発明者 福田 潤

東京都渋谷区広尾4-1-7-409

(72)発明者 広野 卓志

東京都東大和市桜ヶ丘1-1449-3 2-3-3

(72)発明者 烏光 慶一

東京都小平市花小金井南町1-3-15  
307

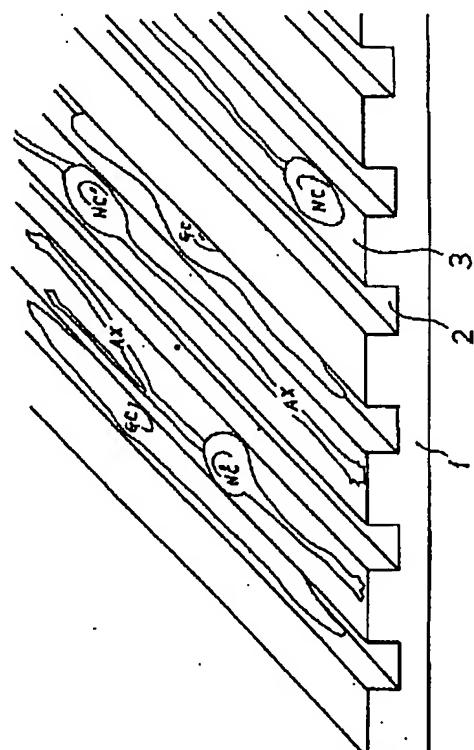
(74)代理人 弁理士 杉村 曜秀 (外1名)

(54)【発明の名称】 生体細胞の成長並びに機能分化の促進・制御方法

(57)【要約】

【目的】 生体細胞又は生体組織に対してそれに接する人工素子との親和性を与えると共に生体防御反応を示すことなく、上記細胞又は組織の成長を促進・制御し機能の分化を促進する。

【構成】 多数の微細な起伏を刻設した表面形状の非多孔質体よりなる人工素子を、神経細胞、筋肉細胞などの生体細胞または組織に接触させる。微細起伏としては幅、深さ共に0.1~1000μmの細条溝が好ましく更に、人工素子表面に生活活性物質を被着することが好ましい。



## 【特許請求の範囲】

1. 多数の微細起伏を刻設した表面を具えてなる人工素子の上記表面を、結合組織、神経細胞、グリア細胞、シユワン細胞、皮膚細胞、筋肉細胞、腎臓細胞および肝臓細胞よりなる群から選ばれる生体細胞または生体組織に接触せしめることを特徴とする生体細胞の成長並びに機能分化の促進・制御方法。
2. 微細起伏が細条溝である特許請求の範囲第1項記載の方法。
3. 細条溝が幅約0.1～1000μm、深さ約0.1～1000μmの寸法を有する特許請求の範囲第2項記載の方法。
4. 細条溝が互いに平行である特許請求の範囲第3項記載の方法。
5. 微細起伏表面に更に生物活性物質を被着した前記特許請求の範囲各項のいずれかに記載の方法。
6. 生活性物質がコラーゲン、ポリ-L-リシン、ポリ-L-オルニチン、ラミン、フィブロネクチン、チックプラズマ、人工脂質膜(LB膜等)、神経成長因子よりなる群から選ばれる特許請求の範囲第5項記載の方法。
7. 前記人工素子が石英ガラス、硬質ガラス、軟質ガラス、有機高分子材料、金属、セラミックス、シリコーンゴム、半導体よりなる群から選ばれた少なくとも一種の物質を含んでなる前記特許請求の範囲各項のいずれかに記載の方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、人工素子、例えば細胞培養容器、人工臓器器材等の人工素子の特定構造を有する表面を生体細胞又は生体組織に接触させて、これらの細胞や組織に増大した親和性と減少した防御反応とを発現させると共に、成長並びに機能分化を促進・制御する方法に関し、細胞工学、組織培養学、医学並びに人工臓器学等に跨がる技術分野において利用されるものである。

【0002】従来、動物細胞、植物細胞、細菌の細胞、カビ細胞等、各種生体細胞の増殖・分化・発生等を人工環境下でコントロールする細胞培養技術の進歩は、2種類の異なる技術改良、即ち、細胞と直接接触する培養用容器の改良と、細胞に栄養を供する培地の改良とに依っている。これらの内、過去におけるアプローチの主流は後者であった。

【0003】特開昭60-18174号公報には、セラミック焼結体などの多孔質体を骨欠損部に補綴材として充填し、コラーゲン繊維並びに骨破壊細胞に対する多孔質体のバイオフィルターとしての作用を利用して新生骨を誘起する方法が提案されている。しかしながら、この方法は骨成育阻害物質の侵入を阻止することによる消極的新生骨誘起方法であって、生体細胞または生体組織と直接接触する物体の表面形状を改良することによって積極的にそ

の成長速度を増大あるいは抑止したり、成長の方向を制御したりする効果を奏するものではない。

【0004】一方、特開昭61-176339号公報には、骨内埋入部に多数の通孔で連通した段違い交叉構造を形成したプレード型骨内インプラントが提案されている。この提案はインプラントの脱落、ガタツキを防止するための機械的結合力の増大を目的としたもので、前記同様に生体細胞や生体組織の成長速度の増大あるいは抑止、成長方向の制御などの効果を発揮させることを意図したものではない。

【0005】また従来、生体中に長時間埋め込むことを意図した人工臓器等の医療用器材は、結合組織細胞との反応性や親和性を高め、いわゆる防御反応を下げるなどを狙い、その材質や巨視的形状の改良に主力が注がれてきた。

【0006】しかして現在使用されている前記培養容器や人工臓器においては、その巨視的な形状(板状、皿状、筒状、等)も、そしてその材質も極めて多岐に亘るが、それら容器や器具の表面で、細胞に直接接触し、細胞増殖等に直接関わる部分の形状は、さほど工夫が凝らされぬまゝに放置され、殆どが平滑な表面加工を施してあるか、あるいは、材料本来の平坦な表面形状のまゝであり、表面の微細構造に着目した改良または研究は未だ提案された例を見ない。

【0007】更に、生体細胞や組織の成長方向を制御する技術、例えば、神経突起の成長を方向付ける技術として従来は、細胞をフィブロネクチン、ラミン、コラーゲン、ポリオルニチン、NGF(神経成長因子)等の化学物質に沿って、あるいはそれらの存在部位に向かって成長させることにより配向成長させるというものがあった。この方法では、これらの化学物質を、個々の分子に方向性を与えて配置させなければならず、従って、極めて高度の技術を必要とするばかりか、これらの手法は、化学物質の不活性化に伴い、特性が失われるという安定性における難点があった。

【0008】また、従来の方法の一つとして、生体組織および細胞での電場による電界方向への成長誘引も知られているが、この方法では電場の生体組織に与える影響が充分解明されていない等の問題があった。

## 【0009】

【発明が解決しようとする課題】本発明者等は、従来等閑視されていた、人工素子の表面における微細構造がそれと接触する生体組織や細胞に特異な性質並びに挙動を与えることを解明し、上述の種々の問題点を解決することに成功し本発明を完成したものである。

【0010】本発明の第一の目的は、接触する生体細胞ならびに組織が、増大した親和性と減少した生体防御反応とを示す表面を具えた人工素子、例えば細胞・組織等の培養容器、医療用器材等を提供するにある。

【0011】本発明の別の目的は、特定構造の人工素子

を用いて、効果の持続性と安全性とを以って細胞増殖の制御、細胞成長の制御、更には神経再生の制御を可能にせんとするものである。

【0012】

【課題を解決するための手段】上述の目的は、多數の微細起伏を刻設した表面を具えてなる人工素子の上記表面を、結合組織、神経細胞、グリア細胞、シュワン細胞、皮膚細胞、筋肉細胞、腎臓細胞および肝臓細胞よりなる群から選ばれる生体細胞または生体組織に接触せしめることを特徴とする生体細胞の成長並びに機能分化の促進・制御方法によって達成される。

【0013】すなわち、本発明によれば、細胞培養用容器あるいは医療用器材などの人工素子において、結合組織、神経細胞、グリア細胞、シュワン細胞、皮膚細胞、筋肉細胞、腎臓細胞および肝臓細胞よりなる群から選ばれる生体細胞または生体組織と接する表面に微細な起伏を機械的または化学的手法によって刻設することによって、細胞や組織に対する接着性や選択性を増し、細胞の増殖を制御することが可能となるもので、更にこの起伏を条溝となせば、かゝる条溝に沿って配向した細胞の成長や細胞群の形成を行なわせることもできる。

【0014】

【作用】以下本発明の構成をその作用と共に詳述する。本発明方法に適用する人工素子の生体細胞または組織と接する表面部分は、多數の微細起伏によって粗鬆面をなすか、更に好ましくは多數の細条溝を有してなる。かかる細条溝は、例えば幅、深さともに約0.1  $\mu\text{m}$  ~ 1000  $\mu\text{m}$  の範囲とすることがよく、必ずしも互いに平行である必要もなく、又、幅深さも均一であつたり規則的形状を備えている必要もない。すなわち人工素子の材質、形状に従つて微細条溝の深さや幅は上記範囲内で適宜に変化し得る。条溝断面形状も、V形、U形、ばち形等任意に選定し得る。更に条溝は直線、曲線、波状のいずれの平面形状でもよく、それらが相互に重なり合つて複雑な微細表面構造を作つた場合においても上述の特異的効果を奏する。

【0015】しかしながら、上記細条溝の形状・配列は、前記範囲内の幅および深さを具えた直線細条溝を互いに平行に配置することが最も好ましく、かくすることによって細胞増殖の制御、細胞成長の制御、さらには神経再生の制御を可能とするのみならず、生体組織や細胞を容易且つ確実に、しかも適合性よく所望の方向に成長させ得るという驚くべき作用が確認された。すなわち、結合組織性細胞は溝の中に、反対に神経細胞等は歓の上に成長する性質が顕著に現れ、条溝に沿つた配向成長が達成される。

【0016】さらに上記性質は人工素子の表面の起伏に生理活性物質、好ましくは、例えばコラーゲン、ポリ-L-リシン、ポリ-L-オルニチン、ラミニン、フィブロネクチン、チックプラズマ、LB因子（人工脂質膜）お

よびNGF（神経成長因子）よりなる群から選ばれる物質を被着することによって更に増強することができる。

【0017】上述の微細起伏を刻設する人工素子の材質は特に限定されないが、通常、石英ガラス；硬質ガラス；軟質ガラス；有機高分子材料、例えばポリスチレン、ポリ塩化ビニル等のプラスチック、コラーゲン、セルロース、寒天、等；金属；セラミックス、例えばSiN、BN、アバタイト等；シリコーンゴム；半導体、例えばSi、Ge、GeAs、InP、GaSe、InSe等；より選ばれる少なくとも一種であり、また生体高分子、例えばコラーゲン板、プラズマクロットの表面等も包含する。

【0017】本発明方法に適用する人工素子、例えば容器、器材等の全体の巨視的形態は、特に規定しない。すなわち、板状、皿状、球状、繊維状、筒状、粒子状等目的、用途に応じて任意に形成し得るが、少なくとも生体細胞または組織と接する部分の表面に上記微細起伏をえることが肝要である。一般に、細胞培養容器または人工臓器等の医療器材に適合される人工素子は、平板、円形の皿、太さ10  $\mu\text{m}$  ~ 10cmの円柱状または繊維状、直径100  $\mu\text{m}$  ~ 10cmの球、あるいは外径10  $\mu\text{m}$  ~ 10cmの中空円筒形状等である。

【0019】かような微細起伏を施した表面には、従来の未加工の表面には見いだしえなかつた細胞増殖性、細胞接着性ならびに細胞配列制御性等が付加されるという特異な作用を発揮する。これらの作用は素子の前記材質の相異によって差があり、また素子の巨視的な形状によつてもその程度に変化が認められる。更に素子と相対する細胞や組織の種類、由来する動物の種類、性別、年齢等によつても変化するものである。しかしながら、素子の作用である表面の微細起伏構造に伴なつて生ずる特異な性質は、上記諸要因の影響を超えて普遍的且つ顕著であつて、本発明の目的を充分に達成することができる。

【0020】図1は、微細条溝加工を施した石英ガラス板上における細胞の成長を模式的に示した斜視拡大図である。

【0021】同図において、石英ガラス板1上に断面U型の直線微細条溝2の複数本を互いに平行に刻設し、その面に生体細胞を接觸して培養すれば、神経細胞NCは微細条溝間の歓3の表面部分に、歓に沿つて神経突起AXを再生させるが、グリア細胞などの結合組織細胞GCは条溝2の中に条溝に沿つて突起を成長させる。

【0022】図2は同様にガラス平板1上に刻設した微細条溝2に沿つて細胞Cの成長する様子をイラストして示したものである。更に図3には、プラスチック繊維1'表面に繊維軸に平行に刻設した微細条溝2に沿つて細胞Cが成長する状態を示している。

【0023】本発明方法に用いる人工素子に微細起伏を刻設するには、フォトレジスト法、レプリカ法、スクラッチ法、プレス法、エッチング法等を適宜に応用することができる。例えば、図2に示したようなガラス皿、ガ

ラス板等の表面の加工にはフォトレジストを用いたリソグラフィー技術を適用することがよく、また図3の繊維表面あるいはガラス球表面並びにガラス管内部表面の微細加工にも同様の方法を適用することができる。更に、プラスチック皿、繊維等の加工には主として三つの方法が用いられる。すなわち、(1)上述のリソグラフィー法、(2)リソグラフィーで加工したガラス板のレプリカを取る方法、および(3)微小な粒子あるいは繊維の切断面により表面にスクラッチ条溝を付ける方法である。更にまた、シリコンゴム、プラスチックチューブ等の表面あるいはコラーゲンを素材とする繊維、プレート、チューブ等の表面の微細加工はガラスチューブのレプリカをとる方法か、あるいはスクラッチ法によることがよい。

【0024】図4はレプリカ法によりプラスチック、シリコンゴム等に微細構造を転写する方法の概要を説明するもので、微細条溝構造を刻設した金属ないしは石英ガラス板等の素材による原型4をもって基材1に転写したシリコンゴム等のレプリカ5を人工素子として実用に供する。

【0025】図5は繊維状の材料の表面に微細条溝を刻設する方法の一例を示すもので、内壁に軸方向の微細条溝を刻設した金属またはガラス円筒を原型4'として、内部に繊維を通過させ矢印方向に引抜くことにより表面に微細条溝2を刻設した繊維1'よりなる人工素子が得られる。

【0026】図6はスクラッチ法の典型的態様を示すもので、硬質材料よりなる櫛の歯状または鋸歯状の原型4"を、それよりも硬度の小さいプラスチック、ゴム、その他各種材質の板1の表面に圧接して、原型4"と板1とを矢印方向に相対運動せしめ、板表面にスクラッチ性の傷を付けることにより、微細条溝を刻設する。

【0027】

【実施例】次に本発明を更に実施例について説明する。

#### 実施例1

成熟マウスの脊髄後根神経節細胞を採取し、細胞を単離するためにトリプシン、コラゲナーゼ等の酵素で処理した後、幅0.5μm、深さ0.2μmの微細条溝を刻設した石英ガラス上および、微細条溝を有しない平滑面の石英ガラス上でそれ培養した。培養液は、ハムス(Hams)F-12培養液とダルベッコ(Dulbecco)MEM液との1:1混合液にプロゲステロン、インシュリン、トランスフェリンを適宜添加したものである。培養は、5%の二酸化炭素を含む空気中37°Cで無血清条件下に24~48時間行なった。培養の結果、神経突起がガラス板上で再生した状態を図7および図8に示す。

【0028】微細条溝を設けない石英ガラス上における神経突起の再生は図8に示すように、軸索再生が起こるが、その方向は一定しない。一方、微細条溝を刻設した(微細条溝は可視光線の解像限界以下の深さ0.2μm、幅0.5μmであるため観察されていない)石英ガラス上

では、図7に示す如く微細条溝の方向に沿って配向した軸索再生が観察される。この場合、条溝から外れて突起を伸ばすものも認められるが、その長さは溝方向の突起の20%以下に留まる。

【0029】ソーダガラス、プラスチック、コラーゲン、アバタイト等の材料にそれぞれ微細条溝加工を施した素子を用い、神経細胞の種類、動物の種類、年齢並びに神経周囲組織の種類を変えて、上記同様の方法で培養した結果、若干の差異は認められるものの上記同様の結果が観察された。

#### 【0030】実施例2

受精後15日目のニワトリ胎児の脊髄後根神経節細胞と脊髄中の運動神経細胞を別々に取り出し、幅5μm、深さ2μmの条溝加工したプラスチック板の溝の両端で同時に培養した。その結果、脊髄後根神経節細胞と運動神経細胞は条溝に沿って成長し、それらの間で、高い効率でシナプス結合を形成した。このとき、脊髄後根神経節細胞に加えた電気刺激は運動神経細胞においても検出され、シナプス結合に特有なしきい値特性が得られた。

(神経繊維、細胞に対する再生促進性)

#### 【0031】実施例3

本発明方法に適用する素子のなかで、材質がガラスもしくはプラスチックでその表面に幅2~10μm、深さ0.5~1μmの溝を有するもの上で、成熟マウスの脊髄後根神経節細胞を、実施例1の方法で培養した。但し、本例では、培地にFCS(牛胎児の血清)を加え、84時間培養する。脊髄後根神経節には神経細胞の他シュワン細胞やグリア細胞が含まれ、これらの細胞は培養中に増殖する。本発明素子の上では神経細胞は90%以上溝の上で生育し、逆に神経以外の細胞は90%以上溝の下で増殖する。この性質の違いから神経細胞と他の細胞をたやすく分離することができ、それをわけて収集することができる。(セルソーターの機能)

#### 【0032】実施例4

受精後15日目のニワトリより入手した繊維芽細胞、シュワン細胞、皮膚細胞、骨格筋肉細胞、腎臓細胞、肝臓細胞、を本発明方法に適用すべく加工した素子上で培養すると、特異な細胞増殖並びに細胞配置を示し、素子形状と細胞選択性、細胞成長刺激性に固有の関係があることが判明した。とりわけ、細胞配置に特徴のある臓器由来の細胞組織の培養に著明な効果が認められた。これらの特徴は、また、細胞の由来する動物の種類、年齢、培養方法によっても大きく左右された。それぞれの細胞に最適の素子材質、溝形状、幅、深さなどがあたえられた。

(異なる種類の細胞に対する選択性)

#### 【0033】実施例5

石英ガラス板上に幅10μm、深さ3μmの微細条溝を所定範囲に刻設し、その範囲外は平滑表面のまゝに残した。その上に前記実施例1と同様な方法で細胞培養を行なったところ、図9に示す如く、条溝のある部分6にお

いては、神経細胞や結合組織の成長は条溝に沿って起こるが、条溝加工の施されていない部分7においては、その成長は一定していなかった。

【0034】実施例6

前記実施例5で用いた石英ガラス板を用い、同実施例と同様の方法で神経細胞を含まない單一種類の細胞（結合組織細胞）の培養を行なった。図10に示すごとく、条溝加工を施した部分6と、施さない部分7とでは、細胞成長の配向性に顕著な差が生ずるとともに、細胞接着性、細胞選択性等にも差が見られた。

【0035】

【発明の効果】本発明は、細胞培養容器あるいは医療用器材において、結合組織、神経細胞、グリア細胞、シュワン細胞、皮膚細胞、筋肉細胞、腎臓細胞および肝臓細胞よりなる群から選ばれる生体組織または生体細胞と接する表面に微細な起伏構造を機械的または化学的に刻設することによって、細胞や組織に対して接着性や選択性を増し、細胞の増殖を制御し、更にこの起伏を細条溝、特に互いに平行な多数の直線状細条溝とすれば、細胞や組織を条溝に沿って配向成長させることができ、より性質の優れた培養容器あるいは医療器材のための素子となすことができる。

【0036】即ち、本発明方法の効果は次の通りに要約される。

1. 細胞の成長促進効果

A. 細胞分裂を促進し細胞増殖を加速する効果。

本発明方法により細胞を培養すると、細胞分裂に要する時間が短くなり、単位時間（例えば1日）内に増殖する細胞数が少なくとも2倍以上に増加する。この際、細胞分裂に伴う様々な現象、例えば細胞の核DNAや、蛋白質の合成量の増加等が同時に観察される。このような効果は細胞分裂能力の優れた細胞、即ち、肝臓細胞、腎臓細胞、皮膚細胞、血管形成細胞に顕著である。

【0037】B. 細胞を成長させる効果。

細胞分裂能力の無い細胞や、分裂能力の少ない細胞については、細胞を大きくしたり、あるいは細胞が伸ばしている繊維を長くする効果が認められる。特に、神経細胞についてはその繊維が2～5倍の長さとなり、骨格筋肉繊維については長さが2～3倍となるとともに直径が2～4倍となる。

【0038】2. 細胞機能の分化促進効果

生体内では、細胞は単独でその役割を果たすだけではなく、周囲の細胞と協調し、機能を分担しつつ役割を果たしている。本発明方法に用いる素子は、従来の素子には認められなかったこのような高度な機能を発現させ得ることが確認された。

【0039】A. 本発明方法により肝臓細胞や腎臓細胞を培養すると、細胞数が増えるのみならず、細胞の高度な機能の発現が促進される。

【0040】即ち、肝臓の細胞については、解毒に直接

かかる酵素、例えばペータグルクロニダーゼの活性が5倍以上に上昇する。このような特種酵素活性の上昇は、従来の培養環境では実現されていなかったものである。

【0041】また、腎臓の細胞については、細胞の尿生成・排泄の機能と直接関わる複数の酵素の活性上昇が認められる。

【0042】更に、皮膚細胞については、多重の細胞が配列することによると思われる角質蛋白の合成の増加や、基底膜成分蛋白の合成促進等、より分化した皮膚構造の形成を促していると考えられる様々な現象が観察される。

【0043】B. 細胞分裂を生ずることが少ない筋肉細胞や神経細胞についても、機能の分化を促進して、高度な機能を発現する。

【0044】神経細胞については、既に述べたような神経繊維の成長の方向付けをするだけでなく、神経の特殊な機能、即ち神経回路網の形成に伴う機能が発現する。即ち、神経細胞が化学伝達物質を合成するための酵素、例えば、コリンアセチラーゼ、カテコラミン合成酵素の活性が増加する。また、培養液中における化学伝達物質の放出が数倍増加する。更に神経細胞内で神経機能が高度化したことを示す各種酵素の増加が認められる。

【0045】筋肉細胞については、その長さや直径が増加するだけでなく、筋肉の収縮機能増加を示すクレアチニンリン酸化酵素の活性が上昇する。

【0046】以上要するに、(1)従来のような細胞培養法を用いた時には殆ど観察されない現象が、本発明素子を用いると観察されること、(2)かかる現象は、細胞の機能が非常に分化したことを示すと共に、生体内で働いている状態に近付いていることを示すものと考えられる。

【0047】本発明方法に用いる素子は、従来公知の手法、すなわち単に培養容器、医療器材等の表面に成長誘引性の化学物質を塗布したり、熱や放電によって加工するのではなく、素子表面に特殊な微細起伏、とりわけ条溝構造の機械的または化学的加工を施すものであるから、加工技術も比較的簡単容易であり、また大量生産も可能であるのみならず、安定した作用、特性を長期間維持することができる。

【0048】また、従来の方法の一つとして、生体組織及び細胞での電場による電界方向への成長誘引も知られているが、この方法では電場の生体組織に与える影響が十分解明されていない等の問題があった。本発明に適用される素子は、これらの解明の一助をなす素子として利用されるとともに、その特性をセルソーターとしても利用出来る。

【0049】とりわけ、この素子は、その細胞選択性並びに細胞配列制御性に特に優れており、特異な細胞配列の必要な臓器、器官に留置する医用器材の素子たりう

る。すなわち、従来、生体中に長時間埋めこむことを意図した医療用器材は、生体の、いわゆる防御反応を下げる事を狙い、材質や形状の改良に主力がそそがれてきていた。しかし本発明にかかる素子は、表面加工の方法によって、特異な細胞群に特異な調和性を持たせるとともに、素子表面に細胞の配列を制御する特異な細胞選択性を持っているため、その性質を利用して、各種の医療用機材の表面被覆用の素子として利用出来る。とりわけ結合組織細胞との反応性、親和性が高いので、素子の材質と、溝加工の工夫により、生体防御反応の低い特性を持つ医療用器材として応用できる。

【0050】以上説明したように、本発明は、化学物質や電場を用いた場合に考えられる様な問題点がなく、簡便にかつ確実に所望の方向に生体組織及び細胞を育成できるという利点がある。従って、本発明は特異的なシナプス形成等のバイオテクノロジーや損傷の治癒促進等の医療、細胞からの物質を抽出する新しい方法を提供する等、物質生産にも応用できるものである。

【0051】特に強調しておきたいのは、本発明が、培養容器材質、大きさ、形状等に制限されず、従来進められていた素材の材質、形状の改良を損なうことなく、巨視的形状を変えることなく、むしろ、従来技術のうえに、付け加わる技術として利用されるということである。本発明による、微細な表面加工により、現有の培養容器、医療用器材に、それまでになかった性質であるところの細胞選択性や、細胞増殖制御性がくわわり、一層性能が高まると考えられる。さらに、本発明に適用する素子は、その元の材質にあまり規定されず、一種類ないしは多種類の材質よりなる容器、器材に適応が可能であり、従来考えられなかった性質をもつ新たな容器、医療用器材が生まれる可能性が高く、下記の用途において将来性が期待される画期的発明といえる。

【0052】1) 人工臓器、生体内に留置する医用器材。とりわけ人工血管、人工心臓、ベースメーカーの表面素子として。また、神経離合、移植用の材料、素子として。

- 2) バイオチップ、バイオコンピューター。
- 3) 細胞分離装置（セルソーター）、細胞クローニング装置
- 4) 臓器移植、脳、神経移植用器材

【図面の簡単な説明】

【図1】図1は本発明方法により人工素子上に生体細胞が成長する状態を説明する拡大斜視図である。

【図2】図2は本発明方法により人工素子上に生体細胞が成長する状態を説明する平面図である。

【図3】図3は本発明方法により人工素子上に生体細胞が成長する状態を説明する斜視図である。

【図4】図4は本発明方法に適用する人工素子を製作する方法を説明するための概要側面図である。

【図5】図5は本発明方法に適用する人工素子の別の具体例を製作する方法を説明するための斜視図である。

【図6】図6は本発明方法に適用する人工素子の更に別の具体例を製作する方法を説明するための斜視図である。

【図7】図7は本発明方法に適用する人工素子上に神経突起が再生する状態を示す顕微鏡写真より写生した図である。

【図8】図8は従来公知の人工素子上に神経突起が再生する状態を示す顕微鏡写真より写生した図である。

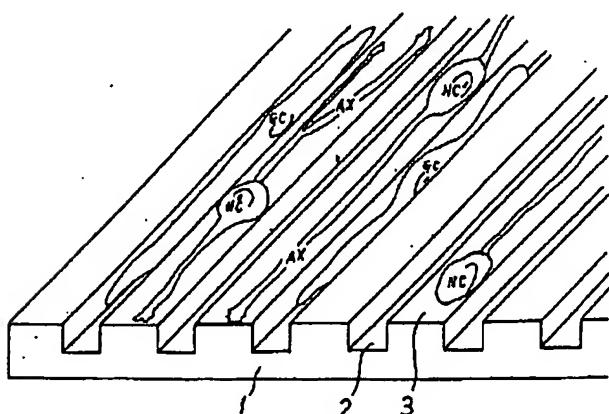
【図9】図9は本発明方法の効果を示すための顕微鏡写真より写生した図である。

【図10】図10は本発明方法の効果を示すための顕微鏡写真より写生した図である。

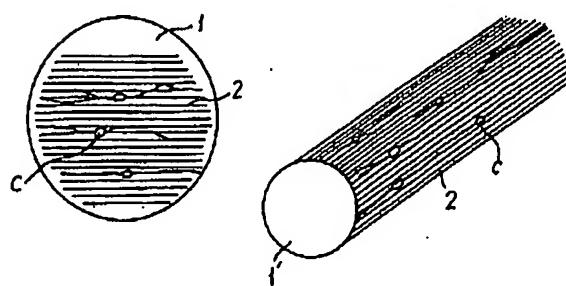
【符号の説明】

- 1 ガラス板
- 1' プラスチック繊維
- 2 微細溝
- 3 章
- 4 原型
- 4' 原型
- 4" 原型
- 5 レプリカ

【図1】

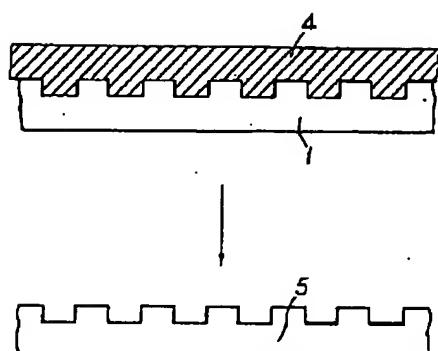


【図2】

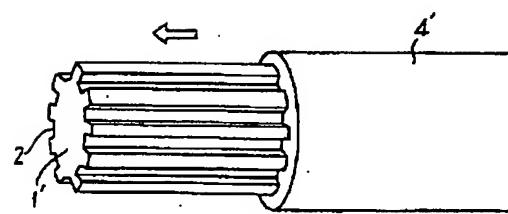


【図3】

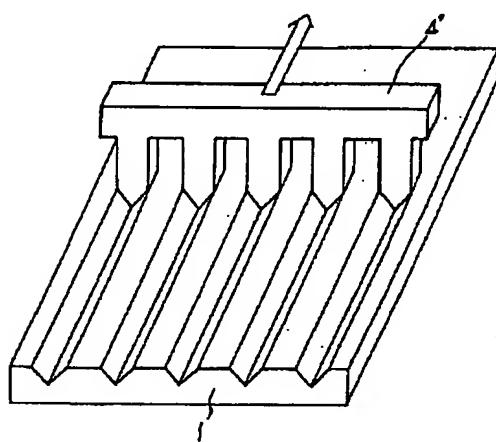
【図4】



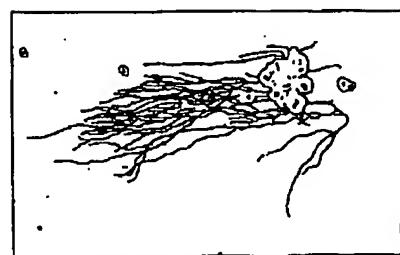
【図5】



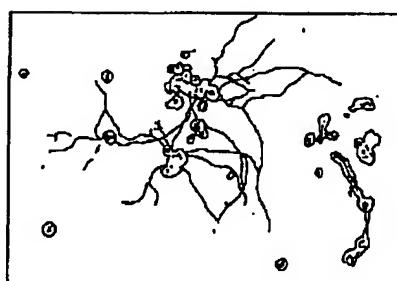
【図6】



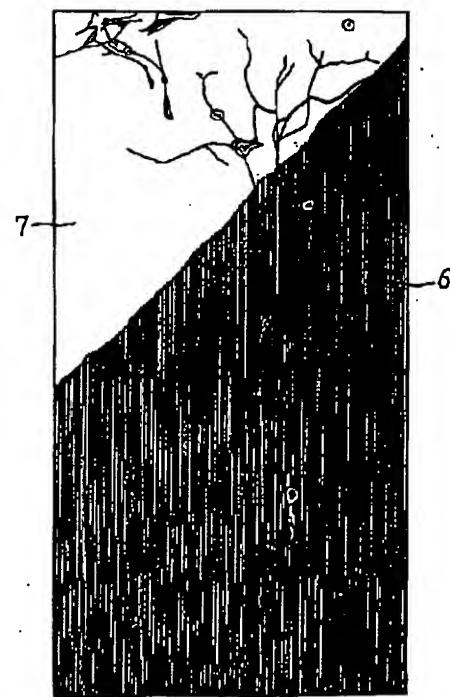
【図7】



【図8】



【図9】



【図10】

